

Über die Wirkung einer kombinierten Therapie mit SP-I Sandoz und Röntgenbestrahlung am experimentellen Sarkom 37 der Maus

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Heilkunde der
Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Adrian Benz

von Dietlikon ZH

1966



19

68

Verlag von S. Karger in Basel

Einleitung

Dem Dermatologen stehen heute zur Behandlung gut- und bösartiger Tumoren Röntgenstrahlen und Cytostatica zur Verfügung. Die Frage, wie eine kombinierte Anwendung von Cytostaticum und Bestrahlung auf einen Tumor wirkt, interessiert ihn deshalb besonders.

Bei den Cytostatica unterscheidet man etwa folgende Gruppen:

1. Alkylierende Substanzen. Dazu gehören die Stoffe N-Lost, TEM und Thiotepa, die auch auf Ruhezellen wirken und dort mit DNS, und RNS, reagieren.
2. Antimetabolite. Sie hemmen die Synthese der Nukleinsäuren und Proteine. Hauptvertreter sind die Folsäureantagonisten wie das Methotrexat, Purinantagonisten wie 6-Mercaptopurin und Pyrimidinantagonisten (5-Fluoruracil), die mit den normalen Stoffwechselzwischenprodukten interferieren.
3. Hormone. Neben den NNR-Steroiden sind hier die Sexualhormone (Oestrogene beim Prostata-Ca, Androgene beim Mamma-Ca) zu erwähnen.
4. Antimitotica. Sie blockieren die Mitose im Moment der Metaphase.
5. Antibiotica.

Zur Gruppe der Antimitotica gehören neben Colchicin und den Vincaalkaloiden die Podophyllum-Cytostatica, zu deren Hauptvertretern auch SP-G und SP-I Sandoz gezählt werden.

Die wachstumshemmenden Eigenschaften des Pflanzenextraktes Podophyllin wurden 1861 von *Bentley* [2] entdeckt, mussten aber 1942 durch *Kaplan* [7] wieder in Erinnerung gerufen werden, dem es gelungen war, spitze Kondylome durch Auftragen von Podophyllin zu heilen. Experimentelle Erforschung folgte, und *Belkin* [1] sowie *Hartwell* und *Shear* [6] prüften seine tumorhemmenden Eigenschaften erstmals am überimpfbaren Sarkom 37 der Maus.

Hauptbestandteil des Podophyllins ist das Podophyllotoxin, das mit andern Stoffen aus dem wasserunlöslichen Extrakt der Podophyllumpflanzen dargestellt werden konnte. In den Forschungslaboratorien der Sandoz AG wurden aber noch weitere, wasserlösliche Substanzen in Form von Glucosiden gefunden, die sich ebenfalls als Spindelgifte erwiesen. Von deren Derivaten zeigten sich das Podophyllotoxin-beta-D-benzylidenglucosid [5], Hauptbestandteil von SP-G, und das nach Spaltung des Lactonringes gefundene Aethylhydrazid der Podophyllinsäure, SP-I [9], als besonders günstig in ihren Eigenschaften. Das von uns verwendete SP-I ist, obschon kein Glucosid, gut wasserlöslich. Es kann in konzentrierter alkoholischer Lösung ohne weiteres durch wässrige Glucoselösung verdünnt werden, was es zur parenteralen Applikation besonders geeignet macht.

Seine Wirksamkeit wurde zunächst an Zell- und Gewebekulturen geprüft und ergab eine DE_{50} von $0,5 \mu\text{g/ml}$ [10]. Die Wirkungsweise konnte dann an Kulturen embryonaler Hühnerfibroblasten nachgewiesen werden:

Wie das Colchicin [4] verhindert das SP-I den Aufbau einer funktionierenden Mitosespindel oder zerstört eine bereits bestehende. Die von den Spindelfasern abhängigen Vorgänge laufen dann nicht oder falsch ab. Die Chromosomen bleiben in Nähe des Zellzentrums liegen, ordnen sich in der Metaphase nicht in der Äquatorialplatte an und trennen sich nicht. Sie bilden oft einen dichten Knäuel (ball-metaphase). Die Polwanderung wird verhindert und damit auch die Ein- und Durchschnürung der Zelle in der Telophase unterbunden. Auf Ruhezellen, d. h. sich in der Interphase befindliche Zellen, haben noch voll wirksame Grenzkonzentrationen von SP-I und SP-G keinen Effekt. Die Vorbereitungsvorgänge zur Mitose werden nicht gestört. Hinweise auf andere Angriffspunkte der Podophyllinderivate sind sehr spärlich und wenig aufschlussreich.

In höheren Konzentrationen erweisen sich auch SP-I und SP-G als unspezifische Zellgifte.

Die in Mitose arretierten Zellen vermögen auch nach Entfernung des wirksamen Stoffes ihre Teilung nicht zu vollenden. Es kommt zum Zerfall der Zellen, und man findet nur noch Kern- und Zelltrümmer. Die Ruhezellen nehmen nach einer gewissen Erholungszeit in normaler Zahl die Teilung wieder auf [10].

Der Wirkungseintritt nach SP-I und SP-G erfolgt *in vitro* sehr rasch, d. h. weniger als 1 Stunde nach Applikation können keine späten Zellteilungsstadien mehr gefunden werden. Irgendwelche

Stoffwechselwirkungen, insbesondere auf die energieliefernden Systeme, können nicht nachgewiesen werden.

Die Resistenzentwicklung ist gegenüber andern Cytostatica viel geringer.

Die Wirkung von SP-I auf experimentelle Tumoren wurde unter anderem am Sarkom 37 der Maus geprüft und ergab dort die beste Tumorchemmung bei einer Wirkstoffdosierung von 70 mg/kg Körpergewicht i. p. tgl., wobei als Masszahl die Reduktion des durchschnittlichen Tumorgewichts der damit behandelten Tiere gegenüber den Kontrollen genommen wurde. Bei 9tägiger Behandlungsdauer betrug diese 79 % [10]. In histologischen Schnitten des Tumors finden sich als auffallendste Veränderungen Hämorrhagien und Nekrosen. Die Toxizität für andere Gewebe macht sich am Knochenmark erst bei höhern als den therapeutischen Dosen bemerkbar, während das Darmepithel schon auf relativ geringe Dosen Zellteilungshemmung zeigt. Dies erklärt teilweise die gastro-intestinalen Nebenwirkungen.

Ausscheidungsorgane für SP-I und SP-G sind Leber und Niere. In diesen Organen werden daher besonders hohe Konzentrationen festgestellt [10].

Die biologische Wirksamkeit der Röntgenstrahlen wurde schon bald nach ihrer Entdeckung in Form der Strahlenreaktionen der Haut beobachtet [8]. Ihre Wirkungsweise besteht nach der Treffertheorie von *Dessauer* (1922) [3], die sowohl die Quantennatur der Strahlung als auch die diskontinuierliche Struktur des lebenden Gewebes berücksichtigt darin, dass bei der Absorption Energie frei wird, die lokal hohe Konzentrationen erreichen kann. Die biologische «Wirkung» hängt dann davon ab, in welchem Teil der Zelle der Absorptionsakt abläuft, d. h. ob die «empfindlichen Bereiche» des Gewebes getroffen werden.

In der Folge wurde erkannt, dass die Trefferwirkung zu Ionisation und Anregung der Materie führt. Neben den «direkten Treffern» postulierte *Rajewsky* [8] «indirekte Treffer», wozu ein am primären Absorptionsort entstandener «Energieträger» seine Energie über eine gewisse Distanz an die «empfindliche Stelle» eines biologischen Systems bringen muss. Die Weiterentwicklung der Treffertheorie führte zur Gewissheit, dass die primären Prozesse an den molekularen Grundsubstanzen des Gewebes ablaufen, wobei allerdings die Rückwirkungen des physiologisch-chemischen Systems «Organismus» auf diese Vorgänge nicht unbemerkt bleiben dürfen (z. B. «Erholungsfähigkeit»).

Für biologische Zwecke wurden die Begriffe der direkten und indirekten Strahlenwirkung eingeführt. Direkte Strahlenwirkung heisst: Ablauf von Ionisation oder Anregung direkt am biologisch wichtigen Substrat wie Nucleinsäuren und Proteinen des Zellkerns. Dadurch kommt es bei diesen Stoffen zu Dissoziationsreaktionen. Man kann sie u. a. durch Aktivitätstests bei Enzymen, Elektrophorese bei Proteinen nachweisen.

Als indirekte Strahlenwirkung bezeichnet man den Einfluss radiochemischer Prozesse der Umgebung auf den Verlauf der Strahlenwirkung an biologisch wichtigen Strukturen. Solche Wirkungen werden durch sog. «Energieträger» vermittelt, wozu z. B. die oxydierenden und reduzierenden Radikale H und OH gehören, die mit vielen organischen Verbindungen reagieren können. Dabei gehen sowohl Abspaltungen wie auch Anlagerungen vor sich (Strahlensynthese). Ihr Wirkungsbereich geht im Gegensatz zur direkten Strahlenwirkung weit über die Dimension biologischer Einheiten hinaus [8].

Für die belebte Materie schuf man weiter die Begriffe der «primären» und «sekundären biologischen Strahlenwirkung». Bei unmittelbarer Schädigung, beispielsweise von Enzymsystemen im Organismus, durch direkte und indirekte Strahlenwirkung spricht man von «primärer biologischer Strahlenwirkung». Lassen sich die Auswirkungen der Bestrahlung aber erst einige Tage nach dem Ereignis feststellen, so spricht man von «sekundärer biologischer Strahlenwirkung».

Eine Strahlenbeeinflussung energieliefernder Prozesse der Zelle konnte unter einer Dosis von etwa 1000 r nicht registriert werden ausser bei Ganzkörperbestrahlung. Der Zelluntergang im Anschluss an eine Bestrahlung ist also wahrscheinlich nicht primäre Folge einer Störung energieliefernder Prozesse.

Hingegen wurden energieverbrauchende Prozesse eindeutig durch Strahlen beeinflusst, wie aus Versuchen am *Bact. coli* hervorging, wo die RNS-Synthese nach Bestrahlung zwar ungestört weiterlief, die DNS-Synthese aber vollkommen aufhörte.

Die Hemmung der DNS-Synthese ist deshalb wahrscheinlich der biologisch primäre Vorgang beim Zustandekommen von Strahlenschäden.

Die einzelne Zelle zeigt nach Strahleneinwirkung folgende Veränderungen:

1. Kern

Der Kern ist der am meisten strahlenempfindliche Zellbestandteil. Schon Dosen von 100 r bewirken Schwellung, Pyknose und Vacuolisierung. Kernmaterial kann ins Plasma austreten oder eine Kernwandhyperchromatose bilden, was speziell an Basalzellen der Epidermis, an Darm- und Keimepithel und am Knochenmark beobachtet wurde.

Besonders empfindlich sind die Zellen gegen Ende der Interphase. Die normale Prophase bleibt darauf aus. In der Metaphase befindliche Zellen beenden die Teilung ungestört. Nach zeitweiser Hemmung kann eine Anhäufung von Mitosen auftreten. Bei hohen Dosen ist die Teilungsrate jedoch längere Zeit herabgesetzt.

2. Plasma

Veränderungen am Cytoplasma sind demgegenüber schwer zu erzielen.

Die Mitochondrien sind je nach Zellart verschieden empfindlich. Pankreas- und Keimzellen zeigten am frühesten Schwellung und körnigen Zerfall dieser Plasmabestandteile.

Am Golgi-Apparat sind Verklumpung und Zerfall, Schwellung und Fragmentation beobachtet worden.

Eigene Untersuchungen

A. Methodik

Zur Beantwortung des eingangs gestellten Problems wählten wir folgendes Vorgehen:

Als Versuchstiere dienten Sandoz-Inzuchtmäuse (SIM). Diesen wurde eine Suspension von Sarkom 37-Zellen subkutan in die Flanke gespritzt. Am siebten Tag nach der Beimpfung begann die Behandlung der inzwischen gewachsenen Tumoren, wozu folgende Gruppen gebildet wurden:

- a) Kontrollgruppe, behandelt mit Lösungsvermittler.
- b) Mit SP-I behandelte Mäuse. Die verwendete Lösung setzte sich aus 35 mg SP-I + 0,2 ml Lösungsvermittler, + H₂O ad 10 ml zusammen. Behandlungsdauer: vier Tage; tägliche Dosis: 70 mg/kg Körpergewicht.
- c) Mit Röntgenstrahlen behandelte Mäuse. Es wurden 1000 r mit 100 kV und 8 mA als einmalige Dosis auf ein Feld von 3 cm Durchmesser appliziert, am gleichen Tag, an dem mit den SP-I-Injektionen begonnen wurde.
- d) Kombination von b und c. Die Röntgendosis wurde 1 Std. nach der ersten SP-I-Applikation gegeben.

Am fünften Tage nach Behandlungsbeginn wurden die Tiere getötet, die Tumoren herauspräpariert, mit Susa fixiert, geschnitten und mit HE gefärbt. Die Präparate wurden nach folgender Methode ausgewertet:

Die Schnitte wurden auf eine aus Pauspapier bestehende Zeichenfläche projiziert und dort in den Umrissen, soweit wie möglich auch in Einzelheiten, festgehalten. Dann wurden die einzelnen Tumorstadien direkt ab Mikroskop genauer differenziert.

Dabei wurden 3 Stadien unterschieden:

Stadium I: Unveränderter Tumor. Die Tumorzellen mussten in kompakter Formation vorhanden sein und durften färberisch keine Abweichungen von der Norm aufweisen.

Stadium II: Leicht geschädigter Tumor. Die kompakten Tumormassen mussten grösstenteils durch aufgelockerte Zellverbände ersetzt sein. Zu diesem Stadium wurden auch vollständig dissoziierte Zellen gezählt, deren Färbbarkeit, besonders des Kerns, sich aber von Stadium I nicht unterscheiden durfte.

Stadium III: Schwer geschädigte und vollständig zerstörte Tumoranteile (Nekrosen). Als schwer geschädigt wurden jene Zonen angesehen, wo die Zellen in keinen Verband mehr integriert waren. Vor allem aber waren in diesen Bezirken die Kerne nekrotisch, pyknotisch oder der Karyolyse anheimgefallen, und die Zellen wiesen färberisch vollkommen andere Eigenschaften auf als bei den Stadien I und II (Kerne schwarz oder rosa, Cytoplasma rosa). Teilweise bestanden diese Tumoranteile nur noch aus einer amorphen Masse.

Die auf dem Pauspapier entsprechend den drei Stadien eingezeichneten Tumoranteile wurden ausgeschnitten, gewogen und ihre absoluten und prozentualen Gewichte errechnet.

B. Ergebnisse

1. In einem Vorversuch (mit je 5 Tieren) wurde zunächst die Tumormhemmung nach der von *Stähelin* und *Cerletti* [10] angegebenen Methode berechnet, wobei beim Vergleich der Resultate die kürzere Behandlungsdauer von nur vier Tagen und der Behandlungsbeginn erst sechs Tage nach der Impfung berücksichtigt werden muss. Als Masszahl wurde die Reduktion des durchschnittlichen Tumorgewichts der behandelten Tiere gegenüber dem der Kontrollen genommen. Über die Ergebnisse gibt Tab. I Auskunft.

In dieser Beurteilung war die Wirkung von SP-I und von Röntgenbestrahlung identisch, wobei allerdings der um 25 % geringere Gewichtsverlust der mit SP-I behandelten gegenüber den bestrahlten Tieren nicht ausser acht gelassen werden darf. Die Kontrolltiere zeigten einen relativ geringen Gewichtsverlust.

TABELLE I

	Durchschnittliches Körpergewicht in g bei Versuchsbeginn	Behandlung	Durchschnittliches Körpergewicht in g bei Versuchsende	Körper- gewichtsverlust in %	Durchschnittliches Tumorgewicht in g	Tumorhemmung in % gegenüber den «unbeh.» Tieren	relatives Tumorgewicht
A	22,8	Kontrolle	19,5	14	2,78	—	1,0
B	26,2	SP-I i. p. 70 mg/kg während 4 Tagen	22,5	14	1,82	34	0,66
C	23,4	einmalige Bestrahlung 1000 r, 100 KV, 8 mA Feldgröße 3	18,6	20	1,84	34	0,66
D	24,0	B + C	17,6	27	1,24	55	0,45

Die kombiniert behandelten Tiere wiesen eine eindeutig stärkere Tumorchemmung auf. Allerdings war der Gewichtsverlust beinahe doppelt so hoch wie bei den Gruppen A und B, ein Drittel höher als bei Gruppe C, was auf eine stärkere Beeinträchtigung des AZ der Tiere hinweist. In dieser Annahme wird man dadurch noch bestärkt, dass von den Tieren der letzten Gruppe eines am Tage der Auswertung spontan einging, die andern sehr krank erschienen.

Das Ergebnis, beurteilt nach den histologischen Schnitten, war folgendes:

Die Papiergewichte der ausgeschnittenen Tumorprojektionen zeigten ein Verhältnis von 6:4:4:3 der Gruppen A, B, C, und D, d. h. auch hier blieben gewichtsmässig B und C sehr nahe beieinander, das Papiergewicht war gegenüber Gruppe A um ein Drittel geringer, in Gruppe D wiederum halb so gross wie in Gruppe A (siehe Tab. II). Der Vergleich der einzelnen Tumorstadien ergab folgende prozentuale Anteile (Tab. II):

TABELLE II

	Durchschnittliches Gesamtpapiergewicht in g	Gewichtsanteil der Stadien in %		
		I	II	III
A	1,510	43,6	23,9	32,5
B	1,008	30,4	18,8	50,8
C	0,981	39,3	26,6	34,1
D	0,766	11,9	20,9	67,2

Ins Auge stachen die geringen prozentualen Unterschiede zwischen Gruppe A und C (abgesehen von den oben erwähnten Papiergewichtsunterschieden, die auf verschiedene Tumorgrossen zurückzuführen sind) in allen drei Stadien. Zwischen Gruppe B und C jedoch bestand eine deutliche Differenz zu Gunsten von B, besonders für Stadium III (Verhältnis 3:2), d. h. der tumorhemmende Effekt durch SP-I war besser als durch Bestrahlung.

Die Kombination von Cytostaticum und Röntgen ergab aber eindeutig das beste Resultat, indem der kompakte Tumor nur noch gut 10 %, Stadium II noch 20 % betrug und der Rest zu den nicht mehr vitalen Tumoranteilen gezählt werden konnte. Nicht unerwähnt bleiben darf jedoch der schlechte Allgemeinzustand der Tiere.

2. Im Hauptversuch (je 10 Tiere) haben sich die obigen Resultate weitgehend bestätigt.

Es zeigte sich hier jedoch schon nach der Berechnungsmethode von *Stähelin und Cerletti* [10] eine leicht stärkere Hemmung bei den mit SP-I behandelten Tieren gegenüber den bestrahlten, und wiederum war die durchschnittliche Körpergewichtsabnahme annähernd im gleichen Verhältnis wie im Vorversuch grösser nach der Röntgenbestrahlung als mit der SP-I-Behandlung (siehe Tab. III).

In jeder Gruppe hatte ein Tier wenig an Gewicht zugenommen. In einem Fall liess sich in der Gruppe C bereits makroskopisch kein Tumor mehr finden.

Besondere Nebenwirkungen traten auch hier, abgesehen von den Gewichtsabnahmen, in den Gruppen B und C und in der Kontrollgruppe nicht auf.

Unter der kombinierten Behandlung waren zwei Tiere einen Tag vor Beendigung des Versuchs eingegangen. Die noch lebenden Mäuse zeigten bedeutend geringere allgemeine Krankheitszeichen als im Vorversuch, doch hatten sämtliche Durchfall. Das Verhältnis der Gewichtsabnahme gegenüber den andern Gruppen war aber trotzdem wieder annähernd dasselbe (Tab. III). Auch in dieser Gruppe wies ein Tier bei der Auswertung keinen makroskopisch auffindbaren Tumor mehr auf.

Betrachtet man weiter die relativen Tumorgewichte, wobei das durchschnittliche Tumorgewicht der Gruppe A gleich 1 gesetzt wurde, so stimmte in frappanter Weise das Produkt der Hemmungen durch die einzelnen Therapiearten der Gruppen B und C mit der mit der kombinierten Methode erhaltenen Hemmung überein. Gleiches fanden wir auch für den Vorversuch (siehe Tab. III resp. I).

Nach der Histologie beurteilt waren die Ergebnisse – vor allem, wenn man die Stadien I und II als noch vermehrungs- resp. erholungsfähige Formationen zusammennimmt – prozentual erneut in ihrer Tendenz gleich den in der Probeserie erhobenen (siehe Tab. II und IV). Sie waren in verschiedener Hinsicht sogar noch günstiger: Der Anteil von Stadium III war zwar allgemein höher, ausgeprägter jedoch bei den behandelten Tieren als in der Kontrollgruppe.

In Gruppe C war der Anteil der Stadien I und II zusammen wieder nur wenig geringer als in Gruppe A. In den Gruppen B und D dagegen betrug er durchschnittlich nur noch 40 % resp. knapp 20 % des Gesamtpapiergewichts.

TABELLE III

	Durchschnittliches Körpergewicht in g bei Versuchsbeginn	Behandlung	Durchschnittliches Körpergewicht in g bei Versuchsende	Körper- gewichtsverlust in %	Durchschnittliches Tumorgewicht in g	Tumorhemmung in % gegenüber den «unbeh.» Tieren	relatives Tumorgewicht
A	22,4	Kontrolle	19,2	14	1,64	—	1,0
B	22,8	SP-I i. p. 70 mg/kg während 4 Tagen	20,2	11	0,65	60	0,4
C	21,5	einmalige Bestrahlung 1000 r, 100 KV, 8 mA Feldgröße 3	17,8	17	0,83	50	0,5
D	23,3	B+C	17,7	24	0,31	81	0,19

TABELLE IV

	Durchschnittliches Gesamtpapiergewicht in g	Gewichtsanteil der Stadien in %		
		I	II	III
A	0,948	35,6	27,4	37,0
B	0,252	27,5	12,9	59,6
C	0,542	22,2	35,1	42,7
D	0,211	7,1	11,2	81,7

Man muss noch erwähnen, dass in Gruppe B in drei Fällen mikroskopisch kein Tumorgewebe mehr zu finden war, in zwei Fällen auch in Gruppe C.

In Gruppe D wiesen zwei Präparate nur noch Tumorstadium III auf, vier weitere nur noch Stadien II und III. Dieses günstige Ergebnis wird noch unterstrichen durch das Verhältnis der Papiergewichte. Getrübt werden leider die an sich vorteilhaften Resultate der Gruppe D, es soll hier nochmals unterstrichen werden, durch die Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes der Versuchstiere.

Aus den Tabellen III und IV resp. I und II wurden weiter anhand der relativen Werte, d. h. unter Berücksichtigung der relativen Tumorgewichte und der verschiedenen prozentualen Tumoranteile in den Gruppen B, C und D gegenüber der Kontrollgruppe, die Anteile von noch «vermehrungsfähigem» Tumorgewebe resp. die Tumorchemmung berechnet (siehe Tab. V und VI), mit folgendem Ergebnis:

TABELLE V

(Kombination der relativen Werte aus Tab. I und II)

	relatives Tumorgewicht	Anteil der Stadien I + II	vermehrungsfähiges Tumorgewebe	Hemmung in %
A	1,0	0,68	0,68	0
B	0,66	0,49	0,32	53
C	0,66	0,66	0,44	35
D	0,45	0,33	0,15	78

Im Hauptversuch war bei den Kontrolltieren der Anteil an noch vermehrungsfähigem Gewebe wie im Vorversuch etwa zwei Drittel.

TABELLE VI

(Kombination der relativen Werte aus Tab. III und IV)

	relatives Tumorgewicht	Anteil der Stadien I+II	«vermehrungsfähiges» Tumorgewebe	Hemmung in %
A	1,0	0,63	0,63	0
B	0,40	0,40	0,16	75
C	0,50	0,57	0,28	56
D	0,19	0,18	0,034	95

Hingegen betrug dieser für die Gruppe B noch ein Viertel des Wertes von Gruppe A, für Gruppe C knapp die Hälfte, für Gruppe D nur noch ein 20stel. Die Hemmung erreichte demnach für Gruppe B 75 %, für Gruppe C 56 %, für Gruppe D sogar 95 %. Sie war in allen Fällen stärker als im Vorversuch.

Prüfung der Signifikanz

Die Signifikanz der erhaltenen Papiergewichtsunterschiede wurde anhand des t-Tests nach Student bestimmt.

Danach war im Vorversuch nur der Unterschied zwischen Kontrollgruppe und kombiniert behandelter Gruppe signifikant ($0,02 > p > 0,01$).

Im Hauptversuch fanden wir eine ausgeprägte Signifikanz zwischen Gruppen A und D ($p < 0,001$), ebenso hoch aber war sie auch zwischen der «unbehandelten» und der mit SP-I behandelten Gruppe. Für alle übrigen gegenübergestellten Werte war $p > 0,05$, dem Grenzwert für biologische Versuche.

Diskussion

Die Fragestellung, die dieser Arbeit zugrunde liegt, war, ob von einer kombinierten Behandlung eines Tumors mit dem Cytostaticum SP-I und Bestrahlung eine Verbesserung der Wirkung erwartet werden kann.

SP-I ist ein Spindelgift vom Typus des Colchicins. Sein Angriffspunkt liegt in der Metaphase. Es hemmt zwar nicht die Synthese der zum Aufbau der Mitosespindel nötigen Stoffe, aber die normale Spindelbildung. Die Ruhezellen werden von SP-I in vollwirksamen Grenz-

konzentrationen nicht betroffen. Auch der Übergang aus der Interphase in die Prophase vollzieht sich ungehindert [10].

Die Wirkung der Röntgenstrahlen besteht hauptsächlich in der Hemmung der DNS-Synthese. Besonders empfindlich ist daher der Zellkern. Am sensibelsten sind die Zellen im Zeitpunkt der späten Interphase. Bereits in der Metaphase befindliche Zellen können die Teilung ungestört vollenden [8].

Wegen der offenbar verschiedenen Angriffspunkte der beiden Therapiearten ist eine Addition ihrer Wirkungen sehr wohl möglich, da gleichzeitig Zellen in verschiedenen Stadien des Zellzyklus beeinflusst werden können.

Die experimentellen Ergebnisse entsprechen denn auch diesen theoretischen Überlegungen. Was man aber für eine eventuelle praktische Anwendung berücksichtigen muss, das sind die Rückwirkungen auf den Gesamtorganismus.

Betrachtet man zunächst die Tiere der Kontrollgruppe, so erwartet man eine gewisse Gewichtsabnahme, trotz der kurzen Zeit des Tumorträgertums. Histologisch überrascht der relativ hohe Anteil von spontannekrotischem Gewebe von durchschnittlich einem Drittel der Tumorschnittfläche. Bei den behandelten Tieren scheint die toxische Beeinflussung mit SP-I-Therapie allein am geringsten zu sein. Die Tiere zeigen gleichen oder geringeren Gewichtsverlust als die Kontrollen. Die Tumورهemmung ist gleichzeitig prozentual gleich oder besser als bei den bestrahlten Tieren. Dem entsprechen auch das Verhalten der Tumorpapiergewichte und die histologischen Befunde. Auch anhand der relativen Werte ist die Wirkung des SP-I besser als die der Bestrahlung.

Die bestrahlten Tiere zeigen bereits zunehmende Allgemeinreaktionen und höhern Gewichtsverlust als die Kontrolltiere. Die Tumorgrosse ist auch hier, nach beiden Methoden beurteilt, gegenüber den «unbehandelten» Tieren bedeutend reduziert. In der histologischen Beurteilung hingegen erstaunt die geringe Differenz der prozentualen Tumorateile im Vergleich zu den Kontrollen. Man muss vielleicht berücksichtigen, dass der Effekt evtl. «sekundärer biologischer Strahlenwirkung» im histologischen Präparat sich in dem kurzen Intervall noch nicht voll auswirken konnte.

Den besten Effekt, rein zahlenmässig, hatte sicher die kombinierte Methode. Die vorgefundenen Tumoren waren bei weitem am kleinsten, die histologischen Stadien III fand man zu 70–80 %, wobei einzelne Schnitte überhaupt nur noch dieses Bild zeigten. Leider mussten hier

aber auch die stärksten Nebenwirkungen registriert werden. Die Tiere waren teils allgemein schwer mitgenommen, teils zeigten sie Durchfall und sie verloren durchschnittlich einen Viertel ihres Gewichts.

Sehr eindrucklich sind trotz dieser Vorbehalte die Resultate in der Beurteilung nach relativen Werten, wo die Tumorchemmung im Hauptversuch für Gruppe D nicht weniger als 95 % beträgt, d. h. der Anteil vermehrungsfähigen Gewebes verglichen mit der Kontrollgruppe noch 5 % ausmacht. Gesamthaft betrachtet kommen wir zu folgenden Schlussfolgerungen:

Nimmt man die absoluten Werte, so ist die kombinierte Anwendung des Cytostaticums SP-I mit Röntgenbestrahlung die wirksamste Therapie. Es handelt sich um eine additive therapeutische Wirkung, wofür die Ergebnisse der relativen Tumorgewichte am deutlichsten sprechen. Betrachtet man aber als Mass für die Wirksamkeit einer Methode ihren Erfolg im Verhältnis zu ihren Nebenwirkungen, so ist die Therapie mit dem Cytostaticum SP-I allein als die beste, weil schonendste, zu bezeichnen.

Weitern Untersuchungen bleibt es überlassen, ob mit andern Dosierungen und Intervallen die Kombination nicht auch zur relativ besten Behandlungsmethode werden könnte.

Zusammenfassung

Es wird die Wirkung einer kombinierten Tumorbehandlung mit Röntgenstrahlen und dem Cytostaticum SP-I auf das experimentelle Sarkom 37 der Maus untersucht, am histologischen Bild beurteilt, und mit dem Effekt der getrennten Anwendung beider Methoden verglichen. Die kombinierte Therapie ergab eine Addition der Einzelwirkungen, wobei allerdings mit der gewählten Versuchsanordnung allgemein toxische Nebenwirkungen deutlich in Erscheinung traten. Die Therapie mit SP-I allein erwies sich als eine signifikant wirksame und relativ als die schonendste Methode.

Summary

The author has studied the efficacy of an anti-tumour treatment consisting of a combination of X-rays and the cytostatic drug SP-I on the experimental sarcoma 37 of the mouse. He has discussed its histological features and has compared the effects of this treatment with the results obtained by the separate use of each of these two methods. The combined treatment has shown that the isolated effect

of each of these methods is additive and that, in all cases, in the conditions used in the experiments, it has undoubtedly provoked the appearance of secondary generalized toxic effects. Treatment by SP-I alone is shown to be a significantly effective method and is relatively less toxic.

Résumé

L'auteur a étudié l'efficacité d'un traitement antitumoral consistant à combiner les rayons X et le cytostatique SP-I sur le sarcome expérimental 37 de la souris; il en a discuté l'aspect histologique et a comparé l'effet de ce traitement avec le résultat obtenu par l'emploi séparé de chacune de ces deux méthodes. Le traitement combiné a révélé que les effets isolés de chacune de ces méthodes s'additionnaient et que, dans tous les cas, dans les conditions d'expériences utilisées, il a indiscutablement provoqué l'apparition d'effets secondaires toxiques généralisés. Le traitement par le SP-I seul s'est révélé être une méthode d'une efficacité significative et relativement la moins toxique.

Literatur

1. Belkin, M.: Effect of podophyllin on transplanted mouse tumors. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 93: 18-25 (1948).
2. Bentley, R.: New american remedies. I. Podophyllum peltatum. *Pharm. J.* 3: 456-464 (1861).
3. Dessauer, F.: zit. in Rajewsky et al.
4. Eigsti, O. J. and Dustin, P., jr.: Colchicine in agriculture, medicine, biology and chemistry. (Iowa State College Press, Ames, Iowa 1955).
5. Emmenegger, H.; Stähelin, H.; Rutschmann, J.; Renz, J. und Wartburg, A., von: Zur Chemie und Pharmakologie der Podophyllum-Glucoside und ihrer Derivate. *Arzneimittelforschung* 11: 327-333 und 459-469 (1961).
6. Hartwell, J. L. and Shear, M. J.: Chemotherapy of cancer. Classes of compounds under investigation and active components of podophyllin. *Cancer Res.* 7: 716-717 (1947).
7. Kaplan, I. W.: Condylomata acuminata. *New Orleans Med. Surg. J.* 94: 388 (1942).
8. Rajewsky, B.; Hobitz, H. und Harder, H.: Biologische Grundlagen der Röntgentherapie. In Marchionini, A.: Hb. Haut- und GeschlechtsKr. Ergänzungswerk V/2, 86-117. (Springer, Berlin/Göttingen/Heidelberg 1959).
9. Rutschmann, J. und Renz, J.: Über Säurehydrazide aus der Podophyllotoxin-Reihe. *Helv. Chim. Acta* 42: 890-907 (1959).
10. Stähelin, H. und Cerletti, A.: Experimentelle Ergebnisse mit den Podophyllum-Cytostatica SP-I und SP-G. *Schweiz. Med. Wschr.* 94: 1490-1502 (1964).